

DOI: 10.13376/j.cblls/2016098

文章编号: 1004-0374(2016)07-0766-05

Trps1参与上皮细胞间质转化的分子机制

汪晓玲, 黄利鸣, 王艳林*

(三峡大学医学院肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室, 宜昌 443002)

摘要: 上皮细胞间质转化 (EMT) 是上皮细胞在特定条件下向间充质细胞转分化的过程, 该过程受到多种信号分子的调节和控制。最新研究表明, GATA 样转录因子 Trps1 能靶向调节 EMT 相关基因, 如 FOXA1、ZEB2、Pax2、Wt1、Arkadia 等的表达, 在维持上皮细胞表型和抑制 EMT 中发挥关键作用。同时, Trps1 的表达也受到 miRNA 的调控。对 Trps1 调控 EMT 作用机制的深入研究, 将为相关疾病治疗提供新的分子靶点和新的治疗策略。现就 Trps1 与 EMT 相互关系的研究进展作一综述。

关键词: 毛发鼻指 (趾) 综合征 -1 基因; 上皮间质转化; miRNA

中图分类号: R329.26; R730.23 **文献标志码:** A

The mechanism of Trps1 induced epithelial-mesenchymal transition

WANG Xiao-Ling, HUANG Li-Ming, WANG Yan-Lin*

(Hubei Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy, Medical College,
Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract: The epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a highly conserved cellular process in which epithelial cells are converted into mesenchymal cells in specific conditions and this process is regulated by various signal molecules. Recent researches indicate that Trps1, a GATA-like transcription factor, plays a key role in maintaining epithelial phenotype and inhibiting EMT through regulating expression of multiple EMT-related genes, such as FOXA1, ZEB2, Pax2, Wt1 and Arkadia. In addition, Trps1 is also regulated by miRNAs in the process of EMT. This paper reviews the research progress about relationship between Trps1 and EMT.

Key words: Trps1; EMT; miRNA

上皮细胞间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是指上皮细胞在特定微环境条件下向间充质细胞转分化的现象。EMT 过程受到多种信号分子的调控, 它们通过激活或沉默 EMT 相关基因的表达而影响 EMT 的发生与进程。在众多参与 EMT 调控的蛋白因子中, 锌指蛋白转录因子 Trps1 的作用近来受到高度关注^[1]。Trps1 是由 *TRPS1* 基因指导合成的一种 GATA 样的转录因子, 主要存在于细胞核中。在人类前列腺、睾丸、卵巢、肾、肺和乳腺等组织中广泛表达^[2-4]。Radvanyi 等^[5]报道, Trps1 在乳腺癌组织中的表达水平高于正常乳腺癌组织, 且在 ER⁺ 和 ER⁻ 的乳腺癌中都有表达。Trps1 可通过与目标基因启动子内 GATA 顺式调控元件特异性结合, 竞争性抑制 GATA 转录因子家族

成员对这些目标基因的转录调节。*TRPS1* 基因突变可导致 I~III 型毛发鼻指 (趾) 综合征 (tricho-rhino-phalangeal syndrome)^[6-7]。新近研究表明, Trps1 能靶向调节 EMT 相关基因, 如 FOXA1、ZEB2、Pax2、Wt1、Arkadia 等的表达, 在维持上皮细胞表型和抑制 EMT 中发挥关键作用。本文就 Trps1 与 EMT 相互关系的研究进展作一综述。

1 Trps1调控EMT的分子机制

Trps1 为 GATA 转录因子家族的成员之一, 可

收稿日期: 2016-03-30; 修回日期: 2016-05-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(81374024)

*通信作者: E-mail: fzswangyl@ctgu.edu.cn; Tel: 0717-6397179

特异结合多种靶基因启动子内的 GATA 顺式调控元件, 在转录水平上调节靶基因的表达。许多重要的转录因子, 包括 FOXA1、SNAIL、SLUG、TWIST 以及 ZEB1/2 等, 对 EMT 具有重要调控作用^[8-14], 而 Trps1 能通过调节这些因子的表达水平而影响 EMT 进程。

FOXA1 是一种 EMT 的负性调控因子, 在 FOXA1 基因转录起始位点上游 3.0 kb 左右有两个 GATA 元件, Trps1 可与之结合而直接激活 FOXA1 的表达。低表达 Trps1 通过下调 FOXA1 的表达水平而促进 EMT 发生, 而外源性高表达 FOXA1 则可以逆转 Trps1 缺失所导致的 EMT^[15]。

ZEB2 是受 Trps1 转录调控的一种正性 EMT 调节因子, 在 ZEB2 基因的启动子内也有 GATA 元件存在, 然而, Trps1 与此元件结合后却起到一个转录抑制因子的作用。敲低 TRPS1 基因表达后, 细胞内 ZEB2 mRNA 的丰度明显升高。用 ChIP 技术检测也发现, Trps1 在 ZEB2 启动子 GATA 元件所在的区域内聚集^[16]。这提示, Trps1 能通过抑制 ZEB2 的表达进而抑制 EMT 发生。

上皮细胞间质转化的逆过程, 即间质细胞上皮转化 (MET) 在胚胎肾发育过程中起关键性作用, 一系列参与 MET 的基因在出生后被关闭, 其中包括 *Wt1* (Wilms tumor suppressor gene) 和 *Pax2* (paired box gene 2)^[17]。研究发现, 在 EMT 实验模型中, 表达沉默的胚胎发育基因 *Wt1* 和 *Pax2* 又获得一过性重新表达, 并参与 EMT 的启动与维持^[18]。提示 *Pax2* 和 *Wt1* 也是参与 EMT 调控的关键基因。在 TRPS1 基因单倍体敲除的胚肾模型中, *Pax2* 和 *Wt1* 被发现表达缺失。这表明 Trps1 能通过抑制 *Pax2* 和 *Wt1* 的表达从而影响 EMT 过程^[19]。

有研究发现, Trps1 表达下降能促进肾纤维化, 这一现象的发生与 Trps1 对 TGF- β /Smad2,3 信号通路的调控功能密切相关。TGF- β /Smad2,3 是能诱导上皮细胞发生 EMT 的最重要的信号通路之一, 而 Smad7 是该信号通路的负性调控因子。在细胞内, Smad7 的水平进一步受其泛素化降解的调节。作为一种 E3 泛素连接酶, Arkadia 能促进 Smad7 降解, 从而活化 TGF- β /Smad 信号通路。在用 Trps1 单倍体表达缺失小鼠 (haploinsufficiency, HT) 制备的单侧输尿管阻塞 (UO) 肾脏纤维化实验动物模型中, Trps1 单倍体缺失能使肾组织中 Arkadia 表达显著性上调。在 Trps1^{+/-} 细胞中沉默 Arkadia 的表达则会抑制 TGF- β 诱导的 EMT。这些结果提示, Trps1 能

抑制 Arkadia 表达, 而 Trps1 单倍体缺失将加快 Smad7 的降解, 从而解除其对 TGF- β /Smad2,3 信号通路的抑制, 由此激活 EMT 并促进肾纤维化的发生^[20]。

2 miRNA通过调控Trps1而影响EMT

越来越多的研究发现, miRNA 对靶基因的调控是 EMT 过程的重要的分子机制之一。近来发现, miR221/222 是与乳腺癌细胞发生 EMT 密切相关的 miRNA 分子, 能抑制上皮细胞表型相关基因的表达, 同时促进间质细胞表型相关基因的表达, 从而使癌细胞维持间质细胞表型并具有更强的侵袭与转移能力。Stinson 等^[21] 研究发现, 在多种肿瘤中 Ras 信号转导系统被激活, 而受该信号通路上调的 FOSL1 (FOS-like antigen 1) 正是 miR221/222 基因的转录活化因子。将 miR221/222 转入上皮型乳腺癌 MCF10A 细胞中后, 癌细胞内促 EMT 相关基因的表达显著性上调, 同时, 细胞形态与功能均发生间质性改变。进一步的机制分析发现, Trps1 是受 miR221/222 负性调控的直接下游靶点, 在 Trps1 mRNA 的 3'-非翻译区内含有能被 miR221/222 识别与结合的靶序列。用 siRNA 技术使 Trps1 表达沉默可致上皮细胞标志分子 E-cadherin 表达下调, 但间质细胞分子标志 Vimentin 表达则上调。基于上述研究结果, 该研究组提出, 在乳腺癌细胞中, Ras 信号转导通路的活化通过上调 FOSL1 表达而活化 miR221/222 基因转录, 由此导致 miR221/222 细胞内水平升高并下调细胞内 Trps1 表达水平, 这将解除后者对 ZEB2 的抑制, 由此促进 EMT 发生和增强癌细胞的侵袭转移能力^[16, 21]。

除 FOSL1 外, Slug 是另一个能上调 miR221/222 表达的转录因子, 在 miR221/222 基因的启动子内含有 Slug 的顺式结合元件, 因而 Slug 也能通过 miR221/222 的介导下调 Trps1 表达, 从而促进肿瘤细胞发生 EMT。许多学者认为, Slug 是一种重要的恶性肿瘤标志物和潜在的药物作用靶点。在乳腺癌细胞中沉默 Slug 可明显降低 miR-221 和 Vimentin 水平, 并提高 E-cadherin 和 Trps1 的表达水平, 由此抑制 EMT 发生。而 Slug 本身又受到 IMP3 (胰岛素样生长因子 II mRNA 结合蛋白家族成员) 的调节。IMP3 能与 Slug mRNA 结合并由此增加 Slug 的表达水平。在乳腺癌细胞中高表达 IMP3, 可经 Slug 的介导而上调 EMT 相关标志分子的表达, 并促进 EMT 发生, 而沉默 IMP3 则具有相反的功能^[22-24]。

研究发现, miR-373 在多种癌症中可以促进 EMT,使癌细胞更容易迁移和侵袭^[25]。在宫颈癌中, miR-373 能够通过靶向 Trps1 的 3'-非翻译区而下调 Trps1 的表达。在癌细胞中外源性转入在 3'-非翻译区内不含 miR-373 结合位点的 Trps1 基因时, miR-373 所诱导的侵袭和转移受到抑制^[15]。这提示 miR-373 下调 Trps1 表达是 miR-373 能够诱导肿瘤发生侵袭和转移的重要分子机制之一。

3 Trps1通过调控EMT影响器官发育和疾病的进程

EMT 不仅参与胚胎发育和器官形成,还广泛参与损伤修复、组织再生和器官纤维化等重要生理、病理过程。另外, EMT 也是上皮恶性肿瘤细胞发生侵袭、迁移以及产生耐药的关键环节。近来诸多研究表明, Trps1 表达异常与多种疾病的发生发展密切相关。

肾胚胎发育的核心环节是后肾的间充质细胞定向分化为成熟肾脏特有的肾小球上皮细胞、肾小管上皮细胞及基质细胞等。有研究报道, Trps1 在胚胎后肾间充质细胞向肾小囊体分化中发挥着关键的调控作用。较之于野生型小鼠, Trps1 敲除的新生鼠肾脏大小发育正常,但后肾间充质细胞分化停滞,上皮细胞分化标志物 Pax2 和 Wt1 表达显著性下调,特征性的表现为肾小管数量显著减少,肾皮质间质明显增宽。上述研究提示, Trps1 可能通过抑制 EMT 但促进 MET 从而调节肾脏的正常发育与分化^[19]。

在肾组织损伤修复过程中, Trps1 对维持肾小管上皮细胞特性,抑制其向间质细胞转化中起到了重要的作用。在急性肾小管损伤时,具有极性和紧密连接的肾小管上皮细胞去分化,转化后的细胞具有未分化胚胎肾间充质细胞的特性,这一过程本质上是一种 EMT 过程。当损伤因素减轻、修复因素占主导地位时,去分化细胞会逆分化为肾小管上皮细胞^[26]。黄坤等^[27]用成年大鼠的急性肾损伤模型(双肾动脉夹闭)模拟了人肾脏损伤过程。免疫组化及免疫印迹分析显示,对照大鼠 Trps1 主要在皮质肾小管上皮细胞表达,缺血再灌注后 1 d 肾组织 Trps1 表达显著下降,3 d 仅见微弱表达;随着受损肾组织的逐渐恢复,其 Trps1 的表达水平也恢复,在第 7、14 天时,表达已有显著性上升,第 21 天时与对照组水平已无显著差异。相关分析发现,肾脏损伤修复过程中 Trps1 表达水平与肾损伤评级指标之间呈负性相关。在同一病变肾组织中, Trps1

高表达的部位肾组织修复更为良好。这些都表明 Trps1 在肾脏损伤修复和再生过程中起到了重要的调控作用。

Gai 等^[20]对 HT 小鼠单侧输尿管阻塞(UUO)肾脏纤维化实验模型动物的分析发现, Trps1 对肾纤维化有明显的抑制作用。肾间质纤维化是慢性肾病进行性发展的重要特征,而肾间质中肌成纤维细胞(MFB)增多是其重要的病理表现。大量证据表明,这些 MFB 中很大一部分是由肾小管上皮细胞通过 EMT 转化而来。有报告指出,在肾间质纤维化的动物模型中,肾间质新增 MFB 约 36% 来源于肾小管上皮细胞转化,约 15% 来源于骨髓干细胞,其余则来源于局部成纤维细胞的增生^[28]。随着肾脏疾病的进展,炎症致使部分肾小管上皮基底膜破坏,肾小管上皮细胞在丢失上皮细胞标志分子 E-cadherin、 α -Catenin 等的同时,还获得间质细胞的标志分子 Vimentin、 α -SMA 等,提示肾小管上皮细胞发生了 EMT 转化。这些转化的细胞具有 MFB 的特征,能大量合成和分泌胶原蛋白,其生成量较典型纤维细胞高 4~5 倍,从而使细胞外基质(ECM)在间质过度沉积,并促使毗邻的管状肾单位瓦解,导致肾小球硬化和肾间质纤维化,最终出现肾脏纤维化,肾功能丧失。在对 UUO 肾脏纤维化实验动物模型分析后发现, Trps1 单倍体缺失显著性促进 UUO 导致的肾纤维化。与野生型小鼠 UUO 肾脏相比, HT 鼠肾脏 I 型胶原含量明显增多,约为野生小鼠 UUO 肾脏的 2 倍^[20]。这提示 Trps1 具有抑制 EMT 的功能, Trps1 表达缺失可通过促进 EMT 而导致肾组织的纤维化。

在与 EMT 密切相关的胆道纤维化中^[29-31], Trps1 也被证实能通过调节 EMT 而参与胆道纤维化进程。Zhe 等^[32]对非吻合口胆道狭窄(NABS)患者的肝组织分析发现,在胆道上皮细胞中 Trps1 和上皮细胞标志分子表达下降,而间质细胞标志分子表达升高,胆道周围有胶原沉积。对分离的肝内胆道上皮细胞(HIBEC)的分析也得到相同结论。该研究组用冷保存再灌注损伤(CPRI)诱导 HIBECs 发生 EMT,然后检测 Trps1 在细胞内表达量的改变对该种细胞 EMT 进程的影响。结果发现, HIBEC 中 Trps1 表达与 CPRI 诱导的 EMT 进展程度负相关。

EMT 与上皮相关肿瘤的恶性程度密切相关,它的发生是上皮肿瘤细胞获得更强侵袭和转移能力的基础。Chen 等^[33]用定量免疫组化技术分析了 152 例 II/III 期乳腺癌患者癌标本中的 Trps1 表达水

平及其预后意义, 结果发现, Trps1 在 90% 以上的乳腺癌组织中表达, 且与患者生存期正相关, Trps1 水平越高患者生存期越长, 提示 Trps1 具有抑癌基因的功能。Su 等^[2]进一步研究发现, Trps1 能够抑制乳腺癌细胞的 EMT, 但这种作用仅在 ER α 阳性的乳腺癌中存在。在具有这种表型的乳腺癌中, Trps1 的表达与上皮表型的蛋白 E-cadherin、 β -catenin 的表达正相关, 与间质表型标志物的表达却没有显著的相关性。Huang 等^[15]也证实, 在乳腺癌中沉默 Trps1 表达会上调间质细胞标志物 β -catenin 和波形蛋白, 下调上皮标志物 E-cadherin 和紧密连接蛋白 Claudin-1 的表达水平, 并且这种影响呈现剂量依赖性, 而过表达 Trps1 则逆转上述作用。

4 小结与展望

EMT 不仅与胚胎发育和器官形成有关, 还参与组织损伤与修复、器官纤维化及肿瘤的发生发展等重要的生理和病理过程。Trps1 是一种广泛表达于多种组织器官的转录因子。在组织再生、创伤修复、器官纤维化以及肿瘤的侵袭和转移等过程中, Trps1 可通过不同途径抑制 EMT, 由此影响上述生理和病理过程 (图 1)。鉴于 Trps1 在维持上皮细胞表型和抑制 EMT 中的关键作用, 深入研究 Trps1 调控 EMT 的作用机制, 将为相关疾病治疗提供新的分子靶点和新的治疗策略。

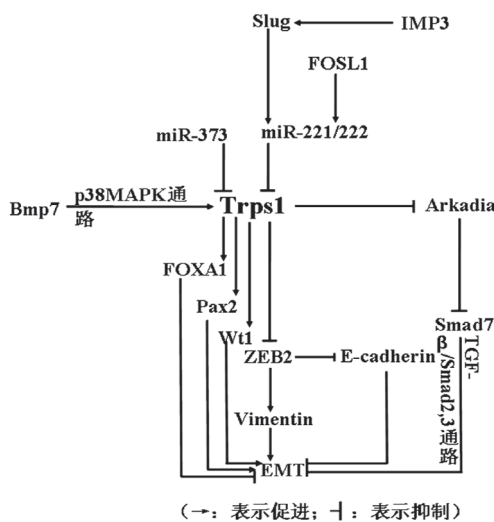


图1 Trps1调控EMT的分子机制

[参 考 文 献]

[1] Chang GT, Steenbeek M, Schippers E, et al.

Characterization of a zinc-finger protein and its association with apoptosis in prostate cancer cells. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92: 1414-21

[2] Su P, Hu J, Zhang H, et al. Association of TRPS1 gene with different EMT markers in ER α -positive and ER α -negative breast cancer. *Diagn Pathol*, 2014, 9: 119

[3] Chen JQ, Bao Y, Litton J, et al. Expression and relevance of TRPS-1: a new GATA transcription factor in breast cancer. *Horm Cancer*, 2011, 2: 132-43

[4] Momeni P, Glockner G, Schmidt O, et al. Mutations in a new gene, encoding a zinc-finger protein, cause trichorhino-phalangeal syndrome type I. *Nat Genet*, 2000, 24: 71-4

[5] Radvanyi L, Singh-Sandhu D, Gallichan S, et al. The gene associated with trichorhinophalangeal syndrome in humans is overexpressed in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 11005-10

[6] Chang GT, van den Bemd GJ, Jhamai M, et al. Structure and function of GC79/TRPS1, a novel androgen-repressible apoptosis gene. *Apoptosis*, 2002, 7: 13-21

[7] Hong J, Sun J, Huang T. Increased expression of TRPS1 affects tumor progression and correlates with patients' prognosis of colon cancer. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 454085

[8] Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest*, 2009, 119: 1420-8

[9] Bronsert P, Enderle-Ammour K, Bader M, et al. Cancer cell invasion and EMT marker expression: a three-dimensional study of the human cancer-host interface. *J Pathol*, 2014, 234: 410-22

[10] Shi J, Wang Y, Zeng L, et al. Disrupting the interaction of BRD4 with diacetylated Twist suppresses tumorigenesis in basal-like breast cancer. *Cancer Cell*, 2014, 25: 210-25

[11] Thiery JP, Acloque H, Huang RY, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*, 2009, 139: 871-90

[12] Dong C, Wu Y, Wang Y, et al. Interaction with Suv39H1 is critical for Snail-mediated E-cadherin repression in breast cancer. *Oncogene*, 2013, 32: 1351-62

[13] Song Y, Washington MK, Crawford HC. Loss of FOXA1/2 is essential for the epithelial-to-mesenchymal transition in pancreatic cancer. *Cancer Res*, 2010, 70: 2115-25

[14] Tsai JH, Donaher JL, Murphy DA, et al. Spatiotemporal regulation of epithelial-mesenchymal transition is essential for squamous cell carcinoma metastasis. *Cancer Cell*, 2012, 22: 725-36

[15] Huang JZ, Chen M, Zeng M, et al. Down-regulation of TRPS1 stimulates epithelial-mesenchymal transition and metastasis through repression of FOXA1. *J Pathol*, 2016, 239: 186-96

[16] Stinson S, Lackner MR, Adai AT, et al. TRPS1 targeting by miR-221/222 promotes the epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer. *Sci Signal*, 2011, 4: ra41

[17] Torban E, Dziarmaga A, Iglesias D, et al. PAX2 activates WNT4 expression during mammalian kidney development. *J Biol Chem*, 2006, 281: 12705-12

[18] Huang B, Pi L, Chen C, et al. WT1 and Pax2 re-ex-

- sion is required for epithelial-mesenchymal transition in 5/6 nephrectomized rats and cultured kidney tubular epithelial cells. *Cells Tissues Organs*, 2012, 195: 296-312
- [19] Gai Z, Zhou G, Itoh S, et al. Trps1 functions downstream of Bmp7 in kidney development. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20: 2403-11
- [20] Gai Z, Zhou G, Gui T, et al. Trps1 haploinsufficiency promotes renal fibrosis by increasing Arkadia expression. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21: 1468-76
- [21] Stinson S, Lackner MR, Adai AT, et al. miR-221/222 targeting of trichorhinophalangeal 1 (TRPS1) promotes epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer. *Sci Signal*, 2011, 4: pt5
- [22] Lambertini E, Lolli A, Vezzali F, et al. Correlation between Slug transcription factor and miR-221 in MDA-MB-231 breast cancer cells. *BMC Cancer*, 2012, 12: 445
- [23] Su P, Hu J, Zhang H, et al. IMP3 expression is associated with epithelial-mesenchymal transition in breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7: 3008-17
- [24] 唐芬. IMP3在乳腺癌中的表达与相关性研究[D]. 暨南大学, 2014: 1-50
- [25] Huang Q, Gumireddy K, Schrier M, et al. The microRNAs miR-373 and miR-520c promote tumour invasion and metastasis. *Nat Cell Biol*, 2008, 10: 202-10
- [26] Sharples EJ. Acute kidney injury: stimulation of repair. *Curr Opin Crit Care*, 2007, 13: 652-5
- [27] 黄坤, 张建国, 李开龙, 等. Trps1在大鼠肾脏缺血再灌注损伤修复过程中的表达及意义. *第三军医大学学报*, 2012, 12: 1158-61
- [28] 郑法雷. 肾小管上皮-间充质细胞转化机制与治疗意义. *医学研究杂志*, 2007, 4: 4-7
- [29] Rygiel KA, Robertson H, Marshall HL, et al. Epithelial-mesenchymal transition contributes to portal tract fibrogenesis during human chronic liver disease. *Lab Invest*, 2008, 88: 112-23
- [30] Diaz R, Kim JW, Hui JJ, et al. Evidence for the epithelial to mesenchymal transition in biliary atresia fibrosis. *Hum Pathol*, 2008, 39: 102-15
- [31] Zhao L, Yang R, Cheng L, et al. LPS-induced epithelial-mesenchymal transition of intrahepatic biliary epithelial cells. *J Surg Res*, 2011, 171: 819-25
- [32] Zhe C, Yu F, Tian J, et al. Trps1 regulates biliary epithelial-mesenchymal transition and has roles during biliary fibrosis in liver grafts: a preliminary study. *PLoS One*, 2015, 10: e0123233
- [33] Chen JQ, Litton J, Xiao L, et al. Quantitative immunohistochemical analysis and prognostic significance of TRPS-1, a new GATA transcription factor family member, in breast cancer. *Horm Cancer*, 2010, 1: 21-33